Bu doküman, tıbbi bilginin dev şirketlerin tekelleşmesinden kurtarılması ve her bireyin şifaya eşit erişebilmesi adına şahsım tarafından halka arz edilmiştir. Bir araştırmacı olarak bu yolu, bilimin kâr hırsına kurban edilmesine sessiz kalamadığım için tek başıma yürüdüm. Bu framework'ü kamuoyuna açmamdaki temel amaç; geliştirdiğim metodolojilerin patentlenerek hapsedilmesini engellemek ve önceki sanat olarak tescillenmesini sağlamaktır. Bu çalışma kapsamında sunulan tüm hipotez, model ve stratejilerin her türlü akademik, klinik veya endüstriyel kullanımında; emeğe saygı ve bilimsel etik gereği Muzaffer Enes Yünlü ismine atıf yapılması zorunluluktur. Unutulmamalıdır ki; hiçbir hisse senedi bir insanın sağlığından, hiçbir kâr marjı bir ailenin huzurundan daha değerli değildir. Hastalar ve halk, kârdan üstündür.

PRO-METHEUS:Deney Protokolü (V3.1)

1. İstatistiksel Güç ve Güvenilirlik Artırımı

Biyolojik Tekrar (N): Kritik parametreler (Western Blot, Sinerji Analizi, Seahorse) için N=4-5 bağımsız biyolojik replika uygulanacaktır.

Teknik Tekrar (n): Her replika içinde n=3 teknik tekrar (well) sabit tutulacaktır.

Veri Şeffaflığı: Deney tasarımı OSF (Open Science Framework) üzerinde ön-kayıt (preregistration) yapılacak ve tüm ham veriler (raw blots, microscopy metadata) yayım aşamasında erişime açılacaktır.

2. Mitokondriyal ve Enerjetik Profilleme (Seahorse XF Analizi)

Sinerji hipotezini desteklemek için NAD+ artışının ATP üretimine ve solunum kapasitesine etkisi ölçülecektir:

OCR (Oxygen Consumption Rate): Bazal solunum, ATP üretimi ve maksimum solunum kapasitesi (Mito Stress Test).

ECAR (Extracellular Acidification Rate): Glikolitik geçişin izlenmesi.

Hedef: NMN + Torin 1 grubunun, A\beta kaynaklı mitokondriyal disfonksiyonu, tekli tedavilere göre daha anlamlı düzeyde restore ettiğini göstermek.

3. TFEB Aktivasyonunun Çok Katmanlı Doğrulanması

Sadece TFEB'i susturmak yetmez; aktivasyonu hem görsel hem transkripsiyonel olarak kanıtlayacağız:

Nükleer Lokalizasyon (IF): Konfokal mikroskopi ile TFEB'in sitoplazmadan nükleusa göçü (DAPI/TFEB co-localization) quantify edilecek.

CLEAR Network Analizi: TFEB'in hedef genleri olan LAMP1, MCOLN1 ve v-ATPase alt birimlerinin mRNA seviyeleri qPCR ile ölçülerek "fonksiyonel transkripsiyonel aktivite" ispatlanacak.

4. A\beta Oligomer Kalite Kontrolü (QC)

Deneyin tekrarlanabilirliği için en kritik hammadde olan Amyloid-Beta (A\beta_{1-42}) için:

Hazırlık: A\beta peptidleri HFIP ile monomerize edilecek, ardından oligomerizasyon için 4°C'de 24 saat inkübe edilecektir.

Doğrulama: Her yeni batch, Western Blot (non-reducing gel) veya TEM (Transmission Electron Microscopy) ile oligomer formasyonu (trimers, tetramers) açısından doğrulanacaktır.

5. Deney Matrisi

Kategori Parametre Yöntem Amaç

Metabolizma Enerji Kapasitesi Seahorse OCR/ECAR Mitokondriyal restorasyon ispatı

Lokalizasyon TFEB Göçü Immunofluorescence (IF) Aktivasyonun görsel kanıtı

Genetik CLEAR Paneli RT-qPCR Transkripsiyonel çıktı doğrulaması

Kalite Kontrol A\beta Yapısı TEM / SDS-PAGE Peptid kalitesinin standardizasyonu

Etik/Güven Ön-Kayıt OSF Preregistration Bilimsel şeffaflık ve "blinded" analiz

Matematiksel Not: Chou-Talalay Sinerji Formülü

Kombinasyon İndeksi (CI) şu formül üzerinden hesaplanacaktır:CI = \frac{(D)_1}{(D_x)_1} + \frac{(D)_2}{(D_x)_2}

Burada (D)_1 ve (D)_2 sinerji için kullanılan dozlar, (D_x)_1 ve (D_x)_2 ise aynı etkiyi tek başlarına yaratan dozlardır. CI < 1 durumu projenin başarı eşiğidir.

Bu dokümanda yer alan protokoller teorik bir framework niteliğindedir. FDA onayı ve gerekli resmi makamlardan yasal izinler alınmadan herhangi bir deney veya uygulama kesinlikle yapılmamalıdır. Bu kuralın ihlali durumunda oluşabilecek hiçbir olumsuzluktan veya sonuçtan şahsım sorumlu tutulamaz; tüm sorumluluk uygulayıcıya aittir.

Yazar:Muzaffer enes yünlü

İletişim:enesyunlu2@gmail.com